

УДК 616.36-008.6-002-092:612.014.464

УЧАСТИЕ КИСЛОРОДЗАВИСИМЫХ ПРОЦЕССОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ РЕПЕРФУЗИОННЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ПЕЧЕНИ

© 2006 г. В. В. Зинчук, М. Н. Ходосовский

Гродненский медицинский университет, Гродно, Беларусь

Важной причиной развития реперфузионных повреждений считается усиление процессов радикалообразования, нарушение баланса между генерацией активных форм кислорода и факторами антиоксидантной защиты, т.е. прооксидантно-антиоксидантного состояния. Изменения кислородтранспортной функции крови при ишемии-реперфузии печени играют важную роль в развитии данной патологии. Сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина вправо, возникающий при ишемии, сохраняется в реперфузионном периоде, что может способствовать усилению свободнорадикальной атаки на орган после ишемии. Среди различных режимов кислородного обеспечения организма в постишемическом периоде создание умеренной гипоксии способствует наименьшим нарушениям кислородтранспортной функции крови, прооксидантно-антиоксидантного баланса и морфофункционального состояния печени. Защитный эффект *L*-аргинина при ишемии-реперфузии печени может быть обусловлен, в частности, модификацией функциональных свойств гемоглобина, участием последнего в формировании кислородного потока в ткани и поддержанием прооксидантно-антиоксидантного равновесия в организме. Представляется перспективным создание новых фармакологических средств, обеспечивающих формирование кислородтранспортной функции крови и образование оптимальных количеств NO, для коррекции реперфузионных осложнений.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время восстановление кровотока в ишемизированной ткани рассматривается как сложный комплекс адаптивных и патологических механизмов, результатом взаимодействия которых может быть как восстановление функции органа, так и его гибель. Нарушения, возникающие после ишемии, именуют “постишемическими”, “реперфузионными” или “реоксигенационными”. В механизмах данных повреждений печени играют роль воспаление, апоптоз, нарушения микроциркуляции и т.д. [46, 51, 52, 59]. Важной причиной развития реперфузионных повреждений считается усиление процессов радикалообразования, нарушение баланса между генерацией активных форм кислорода (АФК) и факторами антиоксидантной защиты, т.е. прооксидантно-антиоксидантного состояния. Возникающий в процессе ишемии и последующей реперфузии дисбаланс между потребностью ткани в кислороде и его доставкой создает условия для усиленного образования свободных радикалов и активации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), ведущих, в конечном счете, к повреждению клеточных и субклеточных мембранных структур [11, 64]. Повреждения тканей при ишемии-реперфузии печени могут быть обусловлены как прямым токсическим действием свободных радикалов на белки, ДНК, липиды, так и непрямым – через активацию провоспалительных генов, индукцию апоптоза и др. [38, 70]. Вместе с тем восстановление кислородного снабжения в ишемизированных тканях –

абсолютно необходимое условие восстановления их функций.

ИСТОЧНИКИ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В ПЕЧЕНИ ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ

Образование АФК в печени при реперфузии может осуществляться в гепатоцитах, купферовских клетках, нейтрофилах [69] и даже в эндотелиоцитах и гладкомышечных клетках сосудов [16]. Установлено, что в гепатоцитах повышение генерации АФК при ишемии-реперфузии печени может быть связано с работой дыхательной цепи митохондрий и фермента ксантиноксидазы [34, 44]. В физиологических условиях “утечка” электронов в дыхательной цепи митохондрий составляет около 2% от используемого ею кислорода [38]. При ишемии идет накопление восстановленных переносчиков и торможение дыхательной цепи, что облегчает “утечку” электронов и образование АФК. Во время реперфузии скорость переноса электронов поврежденной АФК цепью дыхательных ферментов, по-видимому, недостаточна и вновь возникает дисбаланс между донорами и акцепторами электронов, который усиливает генерацию АФК [7, 47]. Наиболее вероятным местом “утечки” электронов, по-видимому, является участок, где расположен кофермент Q, окисленная форма которого убисеминхинон – чрезвычайно активный одноэлектронный восстановитель O₂ [18].

Также значительным источником генерации супероксиданион-радикала ($O_2^{\cdot-}$) является электронтранспортная цепь микросом гепатоцитов, где работает НАД(Ф)Н-цитохром Р450-зависимая система гидроксирования ксенобиотиков, которая образует $O_2^{\cdot-}$ в интактном органе крыс со скоростью в 15 раз большей, чем митохондрии, а доля одноэлектронного восстановления O_2 от его общего поглощенного количества может составлять до 75% [1]. Установлено, что катализируемая Fe^{2+} выработка гидроксильного радикала ($\cdot OH$) микросомами печени крыс и интенсивность в них процессов ПОЛ возрастает при изменении концентрации O_2 в среде от 3 до 20% [68]. При повреждении гепатоцитов генерировать АФК способны электронтранспортные цепи мембран ядер гепатоцитов [15].

Во время ишемии благодаря конформационному изменению и протеолитическому расщеплению в тканях печени идет превращение ксантиндегидрогеназы в радикал-продуцирующую форму – ксантиноксидазу [48, 65]. В результате катаболизма АТФ при ишемии в клетках накапливается гипоксантин. Ксантиноксидаза с помощью O_2 превращает гипоксантин в ксантин, высвобождая в этом процессе $O_2^{\cdot-}$ [35]. Таким образом, при ишемии в печени повышаются уровни фермента ксантиноксидазы и его субстрата – гипоксантина. При реоксигенации в гепатоциты поступает второй его субстрат – O_2 и идет реакция, ведущая к усилению образования свободных радикалов. С помощью хемилюминесцентного метода на модели изолированной перфузированной печени крысы установлено, что после 30 минут ишемии образование кислородных радикалов росло в реперфузионном периоде, достигая максимума примерно к 10-й мин и медленно снижаясь до исходного уровня примерно к 30-й мин реперфузии [65].

Окислительный стресс, который испытывают гепатоциты в начале реперфузии, развивается в перипортальных участках долек, а затем медленно распространяется в среднедольевые регионы [50]. Данный факт наглядно демонстрирует, что максимальному окислительному стрессу подвергаются гепатоциты, находящиеся в более выгодных условиях кровоснабжения и получавшие богатую кислородом кровь в первую очередь, что указывает на кислородзависимый характер генерации АФК.

$O_2^{\cdot-}$ может дисмутировать в перекись водорода (H_2O_2) спонтанно, либо ферментативным путем с помощью супероксиданиондисмутазы (СОД) [38]. Показано, что активность СОД при ишемии печени снижается, а при реперфузии в течение первых 24 ч восстанавливается не полностью [1].

При ишемии-реперфузии в печени возрастает активность каталазы [57], что может косвенно указывать на накопление H_2O_2 . Таким образом, в гепатоцитах в условиях реперфузии имеются два субстрата для реакции Габера-Вейсса: $O_2^{\cdot-}$ и H_2O_2 . Поскольку следовые количества Fe^{2+} всегда присутствуют в клетках, а $O_2^{\cdot-}$ способен высвободить его из ферритина [35, 57], то Fe^{2+} не является лимитирующим фактором для реакции Габера-Вейсса в биологических системах. Известно, что декомпартментализация свободного Fe^{2+} идет в первые 30 минут печеночной ишемии [10]. Также установлено, что в реперфузионном периоде на клетках усиливается экспрессия рецепторов к трансферину и поглощение связанного с этим белком Fe^{2+} , которое затем не включается в ферритин [74]. Из изложенного выше следует, что в гепатоцитах имеются все условия для генерации $\cdot OH$.

Купфферовские клетки способны к “респираторному взрыву” при воздействии на них факторов, активирующих фагоцитоз. Кроме того, эти клетки характеризуются более быстрой конверсией ксантиндегидрогеназы в ксантиноксидазу и более высокой активностью последней по отношению к другим клеткам печени [78]. Хотя звездчатые макрофагоциты печени могут активироваться, если их подвергнуть гипоксии и последующей реоксигенации [63], образование АФК в этих условиях будет лишь умеренным и кратковременным [65]. Однако *in vivo* первоначальная активация купфферовских клеток усиливается факторами комплемента, что приводит к длительному окислительному стрессу [45]. Факторы комплемента не только активируют клетки Купффера, но также инициируют защитные механизмы печени, способствуя выходу восстановленного глутатиона (*GSH*) из гепатоцитов [73]. Таким образом, факторы комплемента стимулируют в печени образование АФК в купфферовских клетках и защищают синусоиды от повреждения последними. АФК, образуемые звездчатыми макрофагоцитами печени, могут изменять активность редокс-чувствительных факторов транскрипции, таких как ядерный фактор κB в эндотелиальных клетках и гепатоцитах [46] и тем самым осуществлять регуляцию провоспалительных генов [38]. Кроме того, АФК системы гипоксантин-ксантиноксидаза индуцируют выработку клетками Купффера хемоаттрактантов, которые способствуют накоплению нейтрофилов в синусоидах печени при реперфузии [56].

Нейтрофилы являются клетками, более активно генерирующими АФК, чем звездчатые макрофагоциты печени. До 90% потребляемого ими кислорода может идти на образование АФК [1].

Продуцируемый в ходе реакции $\text{НАДФ}^+\cdot\text{H}$ с O_2 супероксидный анион и его метаболиты – H_2O_2 и гипохлорная кислота – обеспечивают бактерицидную активность фагоцитов [57]. Хотя не ясно, через какое время после начала реперфузии начинается связанное с нейтрофилами повреждение печени, они играют важную роль в патогенезе реперфузионных повреждений печени [46, 82]. Эндотелиоциты и гладкомышечные клетки сосудов также могут генерировать АФК благодаря собственным $\text{НАД}^+\cdot\text{H}$ - и $\text{НАДФ}^+\cdot\text{H}$ -зависимым оксидазам, которые способны образовывать $\text{O}_2^{\cdot-}$ [16].

Синглетный кислород возникает вторично в системах как продукт взаимодействия восстановленных интермедиатов O_2 ($\text{O}_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , $\cdot\text{OH}$), а также при его ферментативной активации, например, при циклоксигеназном метаболизме арахидоновой кислоты [26]. Синглетный кислород обладает наибольшей реакционной способностью среди АФК и может инактивировать белки [35]. Установлено появление специфической для синглетного кислорода хемилюминесценции печени *in situ* при ишемии-реперфузии печени [29].

В последнее время среди различных АФК особое место отводят оксиду азота (NO). По своей природе это свободнорадикальная молекула, способная при взаимодействии с $\text{O}_2^{\cdot-}$ образовывать пероксинитрит (ONOO^-) [25]. Последний может оказывать прямое цитотоксическое действие на ткани, а также стать источником других АФК. В печени повреждающие эффекты NO также связывают с активацией индуцибельной изоформы NO-синтазы [19, 43]. Последняя может экспрессироваться почти во всех клетках печени, но особое значение при ишемии-реперфузии отводится клеткам Купффера, гепатоцитам, а также мигрировавшим нейтрофилам.

Из изложенного следует, что при ишемии-реперфузии печени повышение продукции АФК в данном органе может быть обусловлено различными механизмами. Среди них большое значение имеет повышение образования АФК в электрон-транспортной цепи митохондрий и микросом эндоплазматического ретикулума, в системе гипоксантин-ксантинооксидаза, а также при активации и “респираторном взрыве” в фагоцитирующих клетках. Декомпартиментализация Fe^{2+} в клетке и перераспределение его между внутри- и внеклеточной средой создают условия для образования высокотоксичных АФК ($\cdot\text{OH}$, синглетный кислород). Важным повреждающим механизмом при прямом действии последних на клетки может быть активация процессов ПОЛ мембран [64]. В связи с этим представляется необходимым про-

анализировать роль ПОЛ в патогенезе реперфузионных повреждений печени.

УЧАСТИЕ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В РАЗВИТИИ РЕОКСИГЕНАЦИОННЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ПЕЧЕНИ

Большинство механизмов реперфузионных повреждений печени прямо или косвенно связаны с поступлением кислорода в ткани и повышением генерации его активных свободнорадикальных форм. Повышенная генерация АФК с одновременной недостаточностью механизмов защиты от их токсического действия (окислительный стресс) в печени запускает ряд сложных патогенетических звеньев, которые приводят клетки к гибели при реперфузии [50]. Прямое цитотоксическое действие АФК связано с повреждением белков, липидов, углеводов и ДНК [2, 35]. Высокая реакционная способность АФК позволяет им реагировать практически с любыми биологическими молекулами, но легче окисляются липиды биологических мембран, содержащие в своем составе жирные полиненасыщенные кислоты. Перекисное окисление последних, индуцируемое АФК, может привести к самым повреждающим эффектам при реперфузии [64].

Усиление процессов ПОЛ при развитии реперфузионных повреждений печени установлено рядом исследователей [1, 3, 64, 73]. Интенсификации ПОЛ при ишемии-реперфузии печени способствуют повышенная продукция АФК при ишемии и особенно при реперфузии печени, недостаточная активность ферментов антиоксидантной системы и возникающий при ишемии метаболический ацидоз [1, 7, 35]. Процессы ПОЛ могут привести к деформации мембранных липопротеиновых комплексов, повышению проницаемости для протонов и воды, инактивации мембрансвязанных ферментов, появлению “пор” в структуре мембран и, в конечном итоге, к цитолизу и гибели клетки [11]. Кроме прямого повреждающего действия ПОЛ на биомембраны клеток их продукты могут инициировать ряд других патологических реакций. Они являются хемоаттрактантами для нейтрофилов, что способствует поддержанию окислительного стресса в печени и развитию поздней фазы реперфузионных повреждений [64]. Усиление процессов ПОЛ в печени, фрагментация, глубокие структурные и функциональные изменения мембран могут активировать эндотелиальные и купфферовские клетки, нейтрофилы и систему комплемента [29, 46].

Еще одним доказательством патогенетической роли процессов ПОЛ в развитии реперфузионных расстройств печени являются результаты исследований, в которых установили положительное влияние антиоксидантов при данном со-



Рис. 1. Участие свободнорадикальных процессов в механизмах развития реперфузионных повреждений печени.

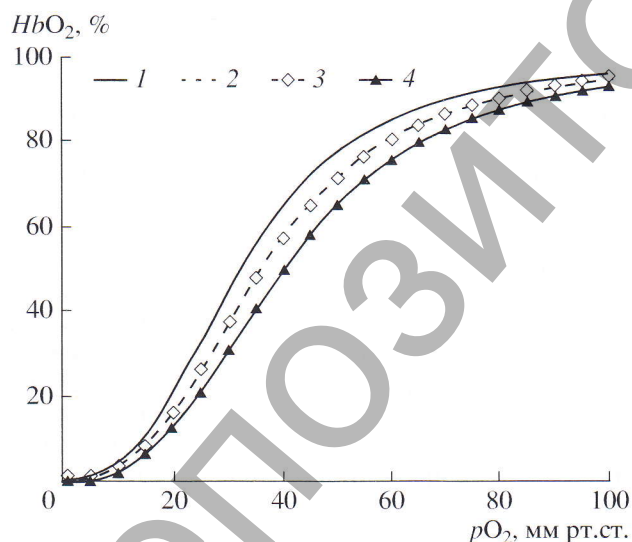


Рис. 2. Кривые диссоциации оксигемоглобина (КДО) при реальных значениях pH , pCO_2 и температуры печеночной венозной крови в условиях ишемии-реперфузии печени у кроликов: 1 – исходное положение КДО, 2 – положение КДО через 30 мин ишемии, 3 – положение КДО через 30 мин реперфузии, 4 – положение КДО через 120 мин реперфузии.

стоянии [48, 73]. Поскольку $O_2^{\cdot -}$ в результате ряда превращений является родоначальником других АФК, в том числе и более токсичного $\cdot OH$, то использование СОД является весьма привлекательным способом коррекции процессов ПОЛ и вызываемых ими реперфузионных повреждений [64, 73]. Так, использование продолжительно действующей формы СОД (полиэтилен гликоль-супероксиддисмутаза) при ишемии-реперфузии печени крыс значительно снижало накопление малонового диальдегида в гомогенате печени на 120-й мин реперфузии по сравнению с животными, не получавшими данного антиоксиданта [64]. В другой работе [73] путем трансгенного повышения активности Cu , Zn -зависимой СОД у мышей удалось снизить накопление гидроперекиси фосфатидилхолина и выход из гепатоцитов в плазму аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ) при моделировании ишемии-реперфузии печени. Аллопуринол (ингибитор ксантиноксидазы) широко используется для коррекции реперфузионных повреждений этого органа [48, 50, 65, 82].

Природные антиоксиданты (α -токоферол и аскорбиновая кислота) успешно применяются в клинической практике для коррекции реперфузионных повреждений печени при выполнении обширных резекций этого органа [27]. Установлено, что инфузия α -токоферола и аскорбата непосредственно перед началом реперфузии значительно снижают уровень субстанций, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой в реперфузионном периоде. Более того, послеоперационные осложнения, такие как печеночная недостаточность, повышенная кровоточивость и инфекционные процессы в группе, получавшей антиоксидантную терапию, встречались реже [27]. Аскорбиновая кислота в зависимости от дозы может проявлять как прооксидантные, так и антиоксидантные свойства. Показана эффективность малых доз аскорбата (30 и 100 мг/кг) при ишемии-реперфузии печени [71].

Участие ионов Fe^{2+} в разветвлении цепей ПОЛ предполагает, что использование хелаторов железа может быть одним из эффективных методов коррекции постишемических повреждений [23, 32]. Установлено, что дезферриоксамин обладает протективным действием на микроциркуляцию кишечника при ишемии-реперфузии [39]. В другом исследовании использование хелатора железа (дезферроксохелин 772SM) в комбинации с антагонистом P -селективных уменьшало реперфузионные повреждения печени крыс [23]. Предполагается, что дезферроксохелин 772SM уменьшает продукцию гидроксильных радикалов и опосредуемые ими повреждения печени [23].

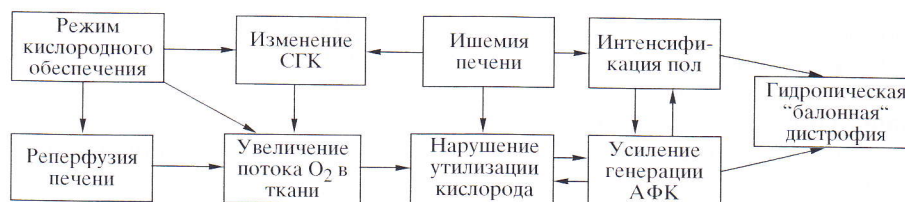


Рис. 3. Участие различных режимов кислородного обеспечения в развитии реперфузионных повреждений печени.

Однако рядом авторов высказывается сомнение в том, что ПОЛ является первичным механизмом повреждений печени в реперфузионном периоде [24, 46]. При оценке степени окислительного стресса у людей, подвергшихся трансплантации печени, не было выявлено достоверных изменений концентраций *GSH* и малонового диальдегида в гомогенате печени при реперфузии [24]. Возможно, что отсутствие изменений изучаемых показателей обусловлено тем, что их оценку проводили спустя всего 5–10 мин после начала реперфузии, когда окислительный стресс может развиваться в субклеточных компартаментах, а также внутри сосудов [73]. Таким образом, вопрос о роли процессов ПОЛ в патогенезе реперфузионных повреждений печени остается не достаточно изученным.

УЧАСТИЕ КИСЛОРОДТРАНСПОРТНОЙ ФУНКЦИИ КРОВИ В ПАТОГЕНЕЗЕ РЕПЕРФУЗИОННЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ПЕЧЕНИ

Поскольку O_2 необходим для стадий инициации, продолжения и разветвления цепей реакций ПОЛ, возникает вопрос о влиянии парциального давления кислорода (pO_2) на интенсивность протекания этих свободнорадикальных процессов при ишемии-реперфузии печени. Зависимость интенсивности процессов ПОЛ от pO_2 спорна [1]. Известно, что свободнорадикальные реакции могут протекать при очень низких значениях pO_2 в тканях. Так, H_2O_2 и доксорубин семихинон при низких концентрациях железа и низком pO_2 (1.5 мм рт.ст.) являются очень эффективными инициаторами ПОЛ [80]. В работе [30] показано, что процессы ПОЛ могут протекать в смеси прооксидантов с жирными полиненасыщенными кислотами при следовых количествах O_2 . Их интенсивность в 10 раз возрастает при использовании газовой смеси с 10% O_2 и затем повышается значительно медленнее с повышением pO_2 в среде. Пересчет значений, полученных авторами, приняв, что использование газовой смеси с 10% O_2 проводили при обычном атмосферном давлении, показывает, что наиболее выраженное увеличение активности ПОЛ наблюдается при изменении pO_2 от 0 до 74–76 мм рт.ст. Показано, что в присутствии альвеолярных макрофагов процессы ПОЛ значительно активируются при инкубации в

среде с 90% содержанием O_2 [76]. Интересно отметить, что β -каротин, действующий при pO_2 , равном 150 мм рт.ст. как антиоксидант, при увеличении pO_2 до 760 мм рт.ст. в микросомах печени приобретает прооксидантные свойства [67].

In vivo сложная система градиентов в организме обеспечивает довольно низкое pO_2 в тканях. Возможность протекания процессов ПОЛ при таком pO_2 в норме эффективно контролируется антиоксидантной системой. Предполагается, что механизмами защиты от повышенного образования АФК при избытке O_2 в митохондриях могут быть утечка протонов, открытие пор в митохондриальной мембране для протонов и субстратов окисления [18]. При патологии механизмы доставки O_2 в ткани могут оказывать существенное влияние на интенсивность в них процессов ПОЛ [4, 7, 18, 83, 84, 86]. Показано, что при лихорадке повышение сродства гемоглобина к кислороду (СГК) способствует уменьшению активности ПОЛ в эритроцитах, сердце, печени и почках [85]. Неоднозначное понимание роли O_2 крови при ишемии-реперфузии привело к использованию различных подходов для коррекции реперфузионных повреждений печени через механизмы транспорта O_2 .

Кислородзависимая природа образования свободных радикалов предполагает влияние кислородтранспортной функции (КТФ) крови на активность процессов ПОЛ в биологических системах [85]. Роль КТФ крови и, в частности, изменения сродства гемоглобина к кислороду (СГК) при реперфузии органов изучена недостаточно. Единичные исследования в этой области [36, 66] не позволяют определить место КТФ крови в патогенезе реперфузионных повреждений. Ацидоз, возникающий при ишемии, способствует уменьшению СГК крови (через механизмы эффекта Бора) и развитию гипероксии в тканях при реперфузии, что усиливает выработку $O_2^{\cdot -}$ и усугубляет реперфузионные повреждения [81]. Это подтверждается результатами исследований, в которых установили повреждающее действие гипероксического кислородного режима, связанное с интенсификацией процессов ПОЛ при реперфузии мозга и печени [55, 60]. В то же время, в работе [36] направленное уменьшение СГК с помощью 2-[4-[[[(3,5-диметиланилино) карбонил] метил]фе-

ноксил]-2-метилпропионовой кислоты приводило к ограничению повреждений после неполной ишемии головного мозга, но было неэффективно при полной ишемии. Показана эффективность данного модификатора СГК при реперфузии миокарда у собак [66].

Исследовалось состояние КТФ крови и прооксидантно-антиоксидантного баланса при ишемии-реперфузии печени у кроликов в условиях нормоксии, т.е. дыхания атмосферным воздухом [8]. Ишемии печени вызывали пережатием а. heratica propria в течение 30 мин, реперфузионный период длился 120 мин. В конце реперфузии брали ткань печени для оценки показателей прооксидантно-антиоксидантного баланса и общей морфологической картины органа. По изменениям последней, а также по активности в плазме крови АЛАТ и АсАТ судили о морфофункциональном состоянии печени при ишемии-реперфузии [20]. Показано, что моделирование ишемии-реперфузии сопровождалось нарушением морфофункционального состояния печени, сдвигом прооксидантно-антиоксидантного равновесия в сторону радикалообразования и уменьшением СГК крови [8, 20]. Установлено, что в конце ишемического периода в органе развивался выраженный венозный застой, который мог быть связан с ослаблением "сифонного" эффекта после перевязки а. heratica propria [22]. Большинство гепатоцитов имели обычные размеры, содержали ядра правильной формы, отсутствовали признаки карнопикноза и кариолизиса. Активность АЛАТ и АсАТ в плазме крови в конце ишемии не изменялась.

Возникающий при ишемии сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина (КДО) вправо сохранялся после восстановления артериального кровотока в печени, что способствовало усилению потока кислорода в ткани. Данные изменения КТФ крови в условиях ишемии-реперфузии печени сопровождалась ростом активности свободно-радикальных процессов (рост содержания диеновых конъюгатов и оснований Шиффа, уменьшение уровня α -токоферола, ретинола и повышение активности каталазы), свидетельствуя о нарушении прооксидантно-антиоксидантного состояния. По-видимому, после ишемии ткань печени не способна нормально утилизировать кислород, а приток крови с обычным содержанием O_2 способствует усилению механизмов генерации АФК с дальнейшим повреждением клеточных и субклеточных структур механизмами ПОЛ [8]. В пользу данного предположения свидетельствует тот факт, что сдвиг прооксидантно-антиоксидантного баланса в сторону радикалообразования у опытных животных сопровождался ростом активности АЛАТ и АсАТ крови в конце реперфузионного периода. Учитывая, что правосторонний сдвиг КДО увеличивает поток кислорода в

ткани [41], полученные изменения СГК в реперфузионном периоде могут способствовать увеличению доли O_2 , расходуемого в свободнорадикальных процессах.

Избыточная активация процессов ПОЛ может быть следствием измененного соотношения доноров и акцепторов электронов в тканях, возникающего при нарушении их кислородного обеспечения [5, 8]. Факт возникающего нарушения способности тканей к полноценному четырехэлектронному восстановлению кислорода вследствие повреждения дыхательной цепи при ишемии позволяет предположить, что в реперфузионном периоде возникает состояние относительного избытка акцепторов электронов. Вместе с тем показано, что тканевое pO_2 печени в реперфузионном периоде снижается [37, 75, 77]. Парадоксально, но восстановление потока O_2 и, в частности, уменьшение СГК в реперфузионном периоде, наблюдаемое в наших экспериментах, не улучшает кислородный режим печени.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что при реперфузии печени возникают существенные нарушения КТФ крови: уменьшается СГК крови, развивается смешанный ацидоз. Данные изменения КТФ крови сопровождаются выраженным ростом активности процессов ПОЛ и снижением содержания ряда антиоксидантов, что указывает на сдвиг прооксидантно-антиоксидантного состояния в сторону радикалообразования. В совокупности указанные нарушения приводят к развитию тяжелых реоксигенационных повреждений печени. Снижение СГК может быть одним из патогенетических звеньев деструктивных повреждений печени при реперфузии.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ КИСЛОРОДНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ОРГАНИЗМА НА ТЯЖЕСТЬ РЕПЕРФУЗИОННЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ПЕЧЕНИ

Известно, что изменение pO_2 в среде может влиять на выработку АФК, поэтому необходимость коррекции кислородного обеспечения органов при реперфузии представляется важной задачей [49]. Анализ литературы указывает на противоречивость подходов к коррекции реоксигенационных повреждений с помощью изменения кислородного снабжения. Установлено, что гипероксия (дыхание 100% O_2) усугубляет реперфузионные повреждения головного мозга [60] и печени [55]. Однако предварительная гипербарическая оксигенация ослабляет ишемические и реперфузионные повреждения печени [28]. Показано, что гипоксические смеси различного состава в реперфузионном периоде могут снижать интенсивность процессов ПОЛ и уменьшать тяжесть реперфузи-

онных повреждений многих органов, в том числе печени [1]. Однако снижение тканевого pO_2 в печени считают параметром ранних повреждений этого органа при реперфузии [77]. В последние годы обсуждаются антиоксидантные свойства CO_2 и возможность использования “терапевтической гиперкапнии” для коррекции реперфузионных повреждений [9, 72]. Известно, что гиперкапния является мощным фактором, влияющим на СГК. Таким образом, изучение вопроса об оптимальном режиме кислородного снабжения при реперфузии печени, состоянии СГК при различных кислородных режимах и его роли в патогенезе реперфузионных повреждений печени весьма актуально и особенно важно с точки зрения патофизиологии самих механизмов реперфузионных повреждений.

Коррекция кислородного обеспечения проводилась с помощью гипоксической, гипероксической и гиперкапнической газовых смесей, которые давали вдыхать животным в течение первых 60 мин реперфузии [87]. Во всех опытных группах, за исключением гипоксической, наблюдалось значительное уменьшение СГК, которое сопровождалось ростом нарушений прооксидантно-антиоксидантного баланса и усилением повреждений печени при реперфузии. В гипоксической группе сдвиг КДО вправо и глубина повреждений печени при реперфузии были наименьшими. Смещение КДО вправо, имеющее положительное значение на начальных этапах ишемии, в условиях восстановления кровотока не способствует поддержанию оптимального уровня прооксидантно-антиоксидантного состояния. Вероятно, снижение СГК при реперфузии способствует увеличению дисбаланса между донорами и акцепторами электронов, в результате чего дыхательная цепь не может полноценно восстанавливать кислород, что ведет к активации свободнорадикальных процессов (рост продуктов ПОЛ и истощение ряда антиоксидантов). В пользу данного предположения свидетельствует тот факт, что умеренная гипоксия способствовала нормализации прооксидантно-антиоксидантного баланса. Показатель СГК изменялся в меньшей степени, а активность АсАТ не отличалась от исходных значений (уровень активности АлАТ повышен только в печеночной крови).

Снижение pO_2 в притекающей крови при реперфузии, по-видимому, способствовало более сбалансированной работе ферментов тканевого дыхания, ограничению “утечки” электронов и генерации АФК в митохондриях клеток печени. Кроме того, O_2 необходим для активации в печени системы гипоксантин-ксантинооксидаза, которая является важным источником АФК в реперфузионном периоде [55]. Умеренная гипоксия, по-видимому, приводит к ограничению использования O_2 в свободнорадикальных реакциях, о чем

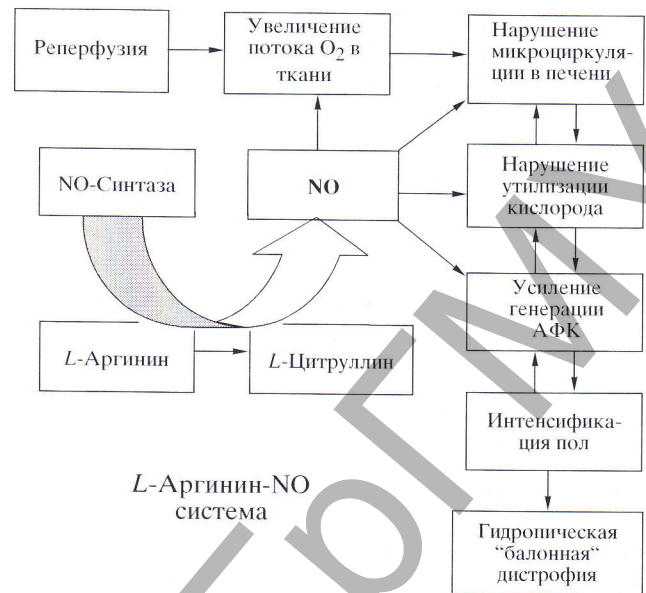


Рис. 4. Схема влияния NO на развитие реперфузионных повреждений печени.

свидетельствует нормализация прооксидантно-антиоксидантного состояния у опытных животных. Возможно, что неадекватное по степени смещение КДО вправо и избыточный рост доставки O_2 в ткани может быть патогенетическим звеном реперфузионных повреждений печени, как и при других кислороддефицитных состояниях, когда развивается дисбаланс между поступлением кислорода в ткани и способностью последних к его нормальной утилизации [85].

Известно, что при реперфузии изолированного легкого кролика гиперкапния уменьшает повреждения, возможно, путем ингибирования активности эндогенной ксантинооксидазы [72]. Механизм антиоксидантного действия CO_2 связывают с увеличением сопряжения окисления и фосфорилирования в митохондриях печени, ограничения респираторного взрыва в полиморфноядерных лейкоцитах [9]. Поскольку все указанные механизмы принимают участие в развитии реперфузионных повреждений печени, мы посчитали необходимым изучить влияние гиперкапнии при данной патологии. Однако ингаляция животным 5% смеси CO_2 не способствовала нормализации прооксидантно-антиоксидантного состояния, более того, отмечалось усиление ацидоза вследствие присоединения дыхательного компонента к метаболическому. Очевидно, более низкое СГК при гиперкапнии способствовало усилению свободнорадикальных процессов в большей степени, чем антиоксидантный эффект CO_2 .

Кислородзависимая природа образования свободных радикалов предполагает влияние КТФ крови на активность ПОЛ в биологических систе-

мах, величина сдвига КДО коррелирует с параметрами свободнорадикального окисления, что позволяет рассматривать SGK как один из факторов, участвующих в поддержании прооксидантно-антиоксидантного равновесия организма [85, 87]. Менее значительный сдвиг КДО вправо при ишемии-реперфузии печени может способствовать поддержанию оптимального уровня прооксидантно-антиоксидантного состояния через уменьшение дисбаланса между донорами и акцепторами электронов, при котором дыхательная цепь не может полноценно восстанавливать кислород, что ведет к активации свободнорадикальных процессов (рост продуктов ПОЛ и истощение антиоксидантной системы).

Результаты исследований с использованием газовых смесей различного состава свидетельствуют, что при ишемии-реперфузии печени значительное уменьшение SGK сопровождается выраженным ростом активности процессов ПОЛ и снижением содержания исследуемых антиоксидантов. Увеличение доставки O_2 в реперфузионном периоде нарушает прооксидантно-антиоксидантный баланс и усиливает повреждения печени [20, 87]. Создание умеренной гипоксии в реперфузионном периоде сопровождается оптимальным изменением SGK и способствует минимизации повреждений печени при данной патологии. Протекционный эффект гипоксии на прооксидантно-антиоксидантное и морфофункциональное состояние печени может реализовываться, в определенной степени, через *L*-аргинин-NO систему организма, так как снижение pO_2 является индуктором для повышения синтеза эндотелием NO.

УЧАСТИЕ *L*-АРГИНИН-NO СИСТЕМЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ РЕПЕРFUЗИОННЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ПЕЧЕНИ

В последнее время большое внимание исследователей привлекают оксид азота и его активные формы [13, 40]. Следует отметить кислородзависимый характер синтеза NO в организме. Роль NO при ишемии-реперфузии представляет особый интерес. NO считается одним из универсальных регуляторов клеточного и тканевого метаболизма [17, 61]. Гипоксия — мощный стимул для повышения продукции эндотелием NO [17]. Развитие реактивной гиперемии связывают с повышенными уровнями этой молекулы в постишемическом периоде [62]. При ишемии-реперфузии печени NO может освобождаться из клеток Купфера, эндотелия синусоидов и тромбоцитов [19]. Однако высокий уровень NO в этом периоде может способствовать образованию цитотоксических продуктов, таких как ONOO⁻ [58]. Одновременно NO может ингибировать активность цитохромоксидазы и процессы тканевого дыхания, повышать

продукцию в митохондриях $O_2^{\cdot-}$ и H_2O_2 [29]. Активные формы азота и кислорода могут реагировать со многими молекулами-мишенями, причем по разным механизмам относительное равновесие между этими реакциями является ключевым для определения роли NO в содействии окислительному стрессу либо в защите от него [31]. Сообщалось, что активация индуцибельной изоформы NO-синтазы в печени приводит к повреждениям органа при реперфузии, вызванным ONOO⁻ [19]. Использование блокаторов данного фермента уменьшало образование ONOO⁻, однако приводило к усилению адгезии и миграции нейтрофилов в паренхиму печени при реперфузии [53]. Показан и положительный эффект ингибирования индуцибельной изоформы NO-синтазы на печень при ишемии-реперфузии [58]. Установлено, что ингибирование NO-синтазы ослабляет лихорадочный ответ на действие липополисахарида, сопровождаясь меньшей активностью свободнорадикального окисления [6]. Учитывая способность NO участвовать в свободнорадикальных реакциях, кислородзависимый характер синтеза этой молекулы и противоречивость имеющихся литературных сведений относительно роли системы *L*-аргинин-NO в патогенезе реперфузионных повреждений печени [19, 42, 75], представляет интерес рассмотреть влияние NO на морфофункциональное состояние печени и прооксидантно-антиоксидантное равновесие у кроликов при ишемии-реперфузии органа.

Инфузия *N*^G-нитро-*L*-аргинина (*L*-NNA) перед началом ишемии в наших экспериментах не приводила к ограничению свободнорадикальных процессов при реперфузии печени [21]. Снижение активности каталазы в конце реперфузионного периода в этой группе экспериментальных животных указывает на срыв компенсаторных возможностей механизмов поддержания прооксидантно-антиоксидантного состояния. Возможно, это следствие того, что *L*-NNA, наряду с ингибированием индуцибельной изоформы NO-синтазы, необратимо подавляет активность конститутивной. Последняя может оказывать протективное влияние при реперфузии печени [19]. Необратимое ингибирование конститутивной изоформы NO-синтазы во время ишемии снижает продукцию NO в реперфузионном периоде, что может усиливать дисбаланс между NO и вазоконстрикторами. Преобладание последних над продукцией NO в реперфузионном периоде приводит к развитию в синусоидах феномена *no-reflow* [75], что замедляет восстановление функции печени после ишемии и усугубляет развивающиеся повреждения. Случаи венозного застоя с гемолизом эритроцитов как внутривенно, так и внутри синусоидов указывают на развитие феномена *no-reflow* у животных, получавших *L*-NNA [21]. Кроме того,

“пороговый” некроз свидетельствует о более тяжелом характере повреждений печени в условиях введения *L-NNA* по отношению к кроликам, у которых ишемия-реперфузия печени моделировалась без коррекции *L*-аргинин-NO системы.

Использование *L*-аргинина при ишемии-реперфузии печени способствовало улучшению прооксидантно-антиоксидантного баланса, а также нормализации уровня АлАТ и АсАТ в плазме крови [21]. Возможно, защитное влияние *L*-аргинина при реперфузии связано с улучшением условий микроциркуляции в печени. Введение *L*-аргинина при ишемии-реперфузии печени ведет к нормализации тканевого напряжения кислорода [75]. Инфузия этой аминокислоты способствовала восстановлению показателей массопереноса кислорода и интенсивности тканевого дыхания после ишемии головного мозга [14]. Антиоксидантное действие *L*-аргинина может быть обусловлено взаимодействием NO с генерируемыми при реперфузии АФК, главным эффектом которого является устранение этих радикалов [33]. NO в данном случае действует как эндогенный гаситель свободных радикалов, в его присутствии цитотоксичность $O_2^{\cdot -}$, H_2O_2 заметно уменьшается [79]. Кроме того, непосредственно *L*-аргинин, обладая антиоксидантными свойствами, может предупреждать истощение антиоксидантного потенциала организма, что оказывает стабилизирующий эффект на мембраны, ограничивая проникновение АФК в глубь гидрофобного слоя [12].

Защитный эффект *L*-аргинина может быть обусловлен, в частности, модификацией функциональных свойств гемоглобина, участием последнего в формировании кислородного потока в ткани и поддержанием прооксидантно-антиоксидантного равновесия в организме [5, 86, 88]. Образование NO, катализируемое индуцибельной изоформой NO-синтазы, может вызывать развитие косвенных эффектов в связи с потенциально высокими потоками NO. Активные формы азота и кислорода могут реагировать со многими молекулами-мишенями, причем по разным механизмам, относительное равновесие между этими реакциями является ключевым для определения роли NO в содействии окислительному стрессу либо в защите от него [31]. Как видим, *L*-аргинин-NO система может оказывать как защитное, так и повреждающее действие на развитие реперфузионных повреждений, что свидетельствует о сложном характере взаимодействия составляющих ее компонентов, нарушение которого и может быть одним из патогенетических звеньев данной патологии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выявленные изменения КТФ крови, изменения прооксидантно-антиоксидантного и морфо-

функционального состояния печени при ишемии-реперфузии в условиях коррекции кислородного обеспечения и *L*-аргинин-NO системы организма отражают участие исследуемых кислородзависимых процессов в патогенезе реперфузионных повреждений органа. Путем целенаправленного воздействия на данные механизмы можно ослабить повреждающее действие реоксигенации на печень. Полученные данные свидетельствуют о том, что степень выраженности реперфузионных повреждений печени меньше в условиях гипоксического режима и коррекции *L*-аргинин-NO системы с помощью *L*-аргинина. Изучение влияния различных кислородных режимов на состояние КТФ крови при ишемии-реперфузии показало, что реоксигенация печени приводила к уменьшению SGK в печеночной и смешанной венозной крови, на что, по-видимому, повлиял смешанный ацидоз, судя по показателям кислотнo-основного равновесия. Представляется перспективным создание новых фармакологических средств, обеспечивающих формирование КТФ крови и образование оптимальных количеств NO, для коррекции реперфузионных осложнений.

Работа частично выполнена благодаря поддержке Фонда фундаментальных исследований Республики Беларусь (№ Б04М-180).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов (молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечения). М.: Медицина, 1989. 267 с.
2. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 1972. 252 с.
3. Деметьева И.И., Андрианова М.Ю., Палюлина М.В. и др. Некоторые аспекты свободнорадикального повреждения трансплантированной печени // Патол. физиология и эксперим. терапия. 2001. № 3. С. 23–25.
4. Зинчук В.В. Деформируемость эритроцитов: физиологические аспекты // Успехи физиологических наук. 2001. Т. 30. № 3. С. 68–78.
5. Зинчук В.В. Участие оксида азота в формировании кислородсвязывающих свойств гемоглобина // Успехи физиол. наук. 2003. Т. 34. № 2. С. 33–45.
6. Зинчук В.В., Борисюк М.В. Изменение свойства гемоглобина к кислороду и параметров прооксидантно-антиоксидантного равновесия при введении ЛПС в условиях коррекции *L*-аргинин-NO пути // Бюл. эксперим. биол. и мед. 1999. Т. 127. № 6. С. 616–619.
7. Зинчук В.В., Борисюк М.В. Роль кислородсвязующих свойств крови в поддержании прооксидантно-антиоксидантного равновесия организма // Успехи физиологических наук. 1999. Т. 30. № 3. С. 38–48.
8. Зинчук В.В., Ходосовский М.Н., Дремза И.К. Кислородтранспортная функция крови и прооксидант-

- но-антиоксидантное состояние при реперфузии печени // Патол. физиол. и эксперим. терапия. 2002. № 4. С. 8–11.
9. Коган А.Х., Грачев С.В., Елисеєва С.В., Болевич С. Способность углекислого газа подавлять продукцию супероксидного аниона в клетках и его биомедицинское значение // Вопр. мед. химии. 1996. Т. 42. № 3. С. 193–202.
 10. Козлов А.В., Вдовин А.В., Азизова О.А., Владимиров Ю.А. Перекисное окисление липидов и свободное Fe^{2+} при ишемии и реоксигенации печени // Бюл. эксперим. биол. и мед. 1987. Т. 104. № 8. С. 165–167.
 11. Литвицкий П.Ф. Патогенные и адаптивные изменения в сердце при его регионарной ишемии и последующем возобновлении коронарного кровотока // Патол. физиол. и эксперим. терапия. 2002. № 2. С. 2–12.
 12. Львова С.П., Горбунова Т.Ф., Абаева Е.М. Влияние гипотермии и даларгина на перекисное окисление липидов в тканях крыс // Вопр. мед. химии. 1993. № 3. С. 21–24.
 13. Марков Х.М. Оксид азота и сердечно-сосудистая система // Успехи физиол. наук. 2001. Т. 32. № 3. С. 49–65.
 14. Нечипуренко Н.И., Антонов И.П., Гаврилова А.Р., Шербина Н.Ю. Состояние процессов перекисного окисления липидов и церебральной оксигенации при локальной ишемии головного мозга в условиях модуляции L-аргинин-NO-системы // Вести НАН Беларуси. Сер. мед.-биол. науки. 2001. № 2. С. 5–9.
 15. Пескин А.В. Роль кислородных радикалов, образующихся при функционировании мембранных редокс-цепей, в повреждении ядерной ДНК // Биохимия. 1996. № 1. С. 65–72.
 16. Петрищев Н.Н., Власов Т.Д. Функциональное состояние эндотелия при ишемии-реперфузии // Росс. физиол. журн. им. Сеченова. 2000. Т. 86. № 2. С. 148–163.
 17. Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Охотин В.Е., Косицын Н.С. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих. М.: Наука, 1997. 156 с.
 18. Скулачев В.П. Кислород в живой клетке: добро или зло? // Росс. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колонопроктологии. 1999. № 1. С. 12–18.
 19. Тэйлор Б.С., Аларсон Л.Х., Биллиар Т.Р. Индуцибельная синтаза оксида азота в печени: регуляция и функции // Биохимия. 1998. № 7. С. 905–923.
 20. Ходосовский М.Н., Лис Р.Е., Зинчук В.В. Морфофункциональное состояние печени при ишемии-реперфузии // Вести НАН Беларуси. Сер. мед.-биол. науки. 2003. № 1. С. 17–20.
 21. Ходосовский М.Н., Зинчук В.В. Участие L-аргинин-NO системы в развитии реперфузионных повреждений печени // Экспер. и клин. фармакол. 2003. Т. 66. № 3. С. 39–43.
 22. Чернух А.М., Александров П.Н., Алексеев О.В. Микроциркуляция. М.: Медицина, 1984. 432 с.
 23. Amersi F., Dulkanchainun T., Nelson S.K. et al. A novel iron chelator in combination with a P-selectin antagonist prevents ischemia/reperfusion injury in a rat liver model // Transplantation. 2001. V. 71. № 1. P. 112–118.
 24. Ardite E., Ramos C., Rimola A. et al. Hepatocellular oxidative stress and initial graft injury in human liver transplantation // J. Hepatol. 1999. V. 31. № 5. P. 921–927.
 25. Beckman J.S., Ischiropoulos H., Zhu L. et al. Kinetics of superoxide dismutase- and iron-catalyzed nitration of phenolics by peroxynitrite // Arch. Biochem. Biophys. 1992. V. 298. № 2. P. 438–445.
 26. Burdon R.H. Superoxide and hydrogen peroxide in relation to mammalian cell proliferation // Free Radic. Biol. Med. 1995. V. 18. № 4. P. 775–794.
 27. Cerwenka H., Khoschsorur G., Bacher H. et al. Normothermic liver ischemia and antioxidant treatment during hepatic resections // Free Radic. Res. 1999. V. 30. № 6. P. 463–469.
 28. Chen M.F., Chen H.M., Ueng S.W., Shyr M.H. Hyperbaric oxygen pretreatment attenuates hepatic reperfusion injury // Liver. 1998. V. 18. № 2. P. 110–116.
 29. Cutrin J.C., Boveris A., Zingaro B. et al. In situ determination by surface chemiluminescence of temporal relationships between evolving warm ischemia-reperfusion injury in rat liver and phagocyte activation and recruitment. // Hepatology. 2000. V. 31. № 3. P. 622–632.
 30. Dirks R.C., Faiman M.D., Huyser E.S. The role of lipid, free radical initiator, and oxygen on the kinetics of lipid peroxidation // Toxicol. Appl. Pharmacol. 1982. V. 63. № 1. P. 21–28.
 31. Espey M.G., Miranda K.M., Feelisch M. et al. Mechanisms of cell death governed by the balance between nitrosative and oxidative stress // Ann. N. Y. Acad. Sci. 2000. V. 899. P. 209–221.
 32. Ferrali M., Bambagioni S., Ceccanti A. et al. Design, synthesis, and physicochemical and biological characterization of a new iron chelator of the family of hydroxychromenes // J. Med. Chem. 2002. V. 45. № 26. P. 5776–5785.
 33. Gaboury J., Woodman R.C., Granger D.N. et al. Nitric oxide prevents leukocyte adherence: role of superoxide // Am. J. Physiol. 1993. V. 265. № 3. P. H862–H867.
 34. Gonzalez-Flecha B., Cutrin J.C., Boveris A. Time course and mechanism of oxidative stress and tissue damage in rat liver subjected to in vivo ischemia-reperfusion // J. Clin. Invest. 1993. V. 91. № 2. P. 456–464.
 35. Grace P.A. Ischemia-reperfusion injury // Br. J. Surg. 1994. V. 81. № 5. P. 637–647.
 36. Grocott H.P., Bart R.D., Sheng H. et al. Effects of a synthetic allosteric modifier of hemoglobin oxygen affinity on outcome from global cerebral ischemia in the rat // Stroke. 1998. V. 29. № 8. P. 1650–1655.
 37. Heijnen B.H., Straatsburg I.H., Kager L.M. et al. Effect of in situ hypothermic perfusion on intrahepatic pO_2 and reactive oxygen species formation after partial hepatectomy under total hepatic vascular exclusion in pigs // Liver. 2003. V. 23. № 1. P. 19–27.
 38. Hensley K., Robinson K.A., Gabbita S.P. et al. Reactive oxygen species, cell signaling, and cell injury // Free Radic. Biol. Med. 2000. V. 28. № 10. P. 1456–1462.
 39. Hernandez L.A., Grisham M.B., Granger D.N. A role for iron in oxidant-mediated ischemic injury to intestinal microvasculature // Am. J. Physiol. 1986. V. 253. P. G49–G53.

40. Hon W.M., Lee K.H., Khoo H.E. Nitric oxide in liver diseases: friend, foe, or just passerby? // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2002. V. 962. P. 275–295.
41. Hsia C.C.W. Mechanisms of disease: Respiratory function of hemoglobin. *New England J. Medicine.* 1998. V. 338. P. 239–247.
42. Hsu C.M., Wang J.S., Liu C.H., Chen L.W. Kupffer cells protect liver from ischemia-reperfusion injury by an inducible nitric oxide synthase-dependent mechanism // *Shock.* 2002. V. 17. № 4. P. 280–285.
43. Isobe M., Katsuramaki T., Kimura H. et al. Role of inducible nitric oxide synthase on hepatic ischemia and reperfusion injury // *Transplant. Proc.* 2000. V. 32. № 7. P. 1650–1652.
44. Jaeschke H., Mitchel J.R. Mitochondria and xanthine oxidase both generate reactive oxygen species in isolated perfused rat liver after hypoxic injury // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1989. V. 160. № 1. P. 140–147.
45. Jaeschke H. Pathophysiology of hepatic ischemia-reperfusion injury: the role of complement activation // *Gastroenterology.* 1994. V. 107. № 2. P. 583–586.
46. Jaeschke H. Mechanisms of reperfusion injury after warm ischemia of the liver // *J. Hepatobiliary Pancreat. Surg.* 1998. V. 5. № 4. P. 402–408.
47. Jassem W., Fuggle S.V., Rela M. et al. The role of mitochondria in ischemia/reperfusion injury // *Transplantation.* 2002. V. 73. № 4. P. 493–499.
48. Jeon B.R., Yeom D.H., Lee S.M. Protective effect of allopurinol on hepatic energy metabolism in ischemic and reperfused rat liver // *Shock.* 2001. V. 15. № 2. P. 112–117.
49. Kaneda T., Ku K., Inoue T. et al. Postischemic reperfusion injury can be attenuated by oxygen tension control // *Jpn. Circ. J.* 2001. V. 65. № 3. P. 213–218.
50. Kato Y., Tanaka J., Koyama K. Intralobular heterogeneity of oxidative stress and cell death in ischemia-reperfused rat liver // *J. Surg. Res.* 2001. V. 95. № 2. P. 99–106.
51. Kohli V., Selzner M., Madden J.F. et al. Endothelial cell and hepatocyte deaths occur by apoptosis after ischemia-reperfusion injury in the rat liver // *Transplantation.* 1999. V. 67. № 8. P. 1099–1105.
52. Lentsch A.B., Kato A., Yoshidome H. et al. Inflammatory mechanisms and therapeutic strategies for warm hepatic ischemia/reperfusion injury // *Hepatology.* 2000. V. 32. № 2. P. 169–173.
53. Liu P., Yin K., Nagele R., Wong P.Y. Inhibition of nitric oxide synthase attenuates peroxynitrite generation, but augments neutrophil accumulation in hepatic ischemia-reperfusion in rats // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1998. V. 284. № 3. P. 1139–1146.
54. Matsumoto F., Sakai H., Yamaguchi M. et al. Allopurinol reduced hepatic ischemia-reperfusion injury exacerbated by inhalation of high-concentration oxygen in rats // *Eur. Surg. Res.* 1997. V. 29. № 6. P. 429–437.
55. Matsumura F., Yamaguchi Y., Goto M. et al. Xanthine oxidase inhibition attenuates kupffer cell production of neutrophil chemoattractant following ischemia-reperfusion in rat liver // *Hepatology.* 1998. V. 28. № 6. P. 1578–1587.
56. Mayer D.C., Strada S.J., Hanson A., Artman M. Effects of hemorrhagic shock and retransfusion on catalase and superoxide dismutase activities in rabbits // *Circ. Shock.* 1992. V. 36. № 2. P. 147–153.
57. McCord J.M. Superoxide radical: controversies, contradictions, and paradoxes // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1995. V. 209. № 2. P. 112–117.
58. Meguro M., Katsuramaki T., Nagayama M. et al. A novel inhibitor of inducible nitric oxide synthase (ONO-1714) prevents critical warm ischemia-reperfusion injury in the pig liver // *Transplantation.* 2002. V. 73. № 9. P. 1439–1446.
59. Menger M.D., Richter S., Yamauchi J., Vollmar B. Role of microcirculation in hepatic ischemia/reperfusion injury // *Hepatogastroenterol.* 1999. V. 46. № 2. P. 1452–1457.
60. Mickel H.S. Hyperoxia during reperfusion is a factor in reperfusion injury // *Free Radic. Biol. Med.* 1990. V. 8. № 3. P. 269.
61. Moncada S., Palmer R.M.J., Higgs E.A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology // *Pharmacol. Rev.* 1991. V. 44. № 2. P. 109–142.
62. Monsuez J.J. Mediators of reactive hyperemia // *Arch. Mal. Coeur. Vaiss.* 2001. V. 94. № 6. P. 591–599.
63. Nakamitsu A., Hiyama E., Imamura Y. et al. Kupffer cell function in ischemic and nonischemic livers after hepatic partial ischemia/reperfusion // *Surg. Today.* 2001. V. 31. № 2. P. 140–148.
64. Nguyen W.D., Kim D.H., Alam H.B. et al. Polyethylene glycol-superoxide dismutase inhibits lipid peroxidation in hepatic ischemia/reperfusion injury // *Crit. Care.* 1999. V. 3. № 5. P. 127–130.
65. Nunes F.A., Kumar C., Chance B., Brass C.A. Chemiluminescent measurement of increased free radical formation after ischemia/reperfusion. Mechanisms of free radical formation in the liver // *Dig. Dis. Sci.* 1995. V. 40. № 5. P. 1045–1053.
66. Pagel P.S., Hettrick D.A., Montgomery M.W. et al. RSR13, a synthetic modifier of hemoglobin-oxygen affinity, enhances the recovery of stunned myocardium in anesthetized dogs // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1998. V. 285. № 1. P. 1–8.
67. Palozza P., Calviello G., Bartoli G.M. Prooxidant activity of beta-carotene under 100% oxygen pressure in rat liver microsomes // *Free Radic. Biol. Med.* 1995. V. 19. № 6. P. 887–892.
68. Puntarulo S., Cederbaum A.J. Effect of oxygen concentration on microsomal oxidation of ethanol and generation of oxygen radicals // *Biochem. J.* 1988. V. 251. № 3. P. 787–794.
69. Rauen U., Viebahn R., Lauchart W., de Groot H. The potential role of reactive oxygen species in liver ischemia/reperfusion injury following liver surgery // *Hepatogastroenterol.* 1994. V. 41. № 4. P. 333–336.
70. Rudiger H.A., Clavien P.A. Tumor necrosis factor alpha, but not Fas, mediates hepatocellular apoptosis in the murine ischemic liver // *Gastroenterology.* 2002. V. 122. № 1. P. 202–210.
71. Seo M.Y., Lee S.M. Protective effect of low dose of ascorbic acid on hepatobiliary function in hepatic ischemia/reperfusion in rats // *J. Hepatol.* 2002. V. 36. № 1. P. 72–77.
72. Shibata K., Cregg N., Engelberts D. et al. Hypercapnic acidosis may attenuate acute lung injury by inhibition of

- endogenous xanthine oxidase // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1998. V. 158. № 5. P. 1578–1584.
73. Suzuki M., Fukuhara K., Unno M. et al. Correlation between plasma and hepatic phosphatidylcholine hydroperoxide, energy charge, and total glutathione content in ischemia reperfusion injury of rat liver // *Hepatogastroenterol.* 2000. V. 47. № 34. P. 1082–1089.
 74. Tacchini L., Poli D.F., Bernelli-Zazzera A., Cairo G. Transferrin receptor gene expression and transferrin-bound iron uptake are increased during postischemic rat liver reperfusion // *Hepatology.* 2002. V. 36. № 1. P. 103–111.
 75. Uhlmann D., Scommotau S., Witzigmann H., Spiegel H.U. Exogenous L-arginine protects liver microcirculation from ischemia reperfusion injury // *Eur. Surg. Res.* 1998. V. 30. № 3. P. 175–184.
 76. Vacchiano C.A., Osborne G.R., Tempel G.E. 8-ISO-PGF α production by alveolar macrophages exposed to hyperoxia // *Shock.* 1998. V. 9. № 4. P. 266–273.
 77. van-Wagensveld B.A., van-Gulik T.M., Gabeler E.E. et al. Intrahepatic tissue pO_2 during continuous or intermittent vascular inflow occlusion in a pig liver resection model // *Eur. Surg. Res.* 1998. V. 30. № 1. P. 13–25.
 78. Wiezorek J.S., Brown D.H., Kupperman D.E., Brass C.A. Rapid conversion to high xanthine oxidase activity in viable Kupffer cells during hypoxia // *J. Clin. Invest.* 1994. V. 94. № 6. P. 2224–2230.
 79. Wink D.A., Cook J.A., Pacelli R. et al. Nitric oxide (NO) protects against cellular damage by reactive oxygen species // *Toxicol. Lett.* 1995. V. 82–83. P. 221–226.
 80. Winterbourn C.C., Gutteridge J.M., Halliwell B. Doxorubicin-dependent lipid peroxidation at low partial pressures of O_2 . // *J. Free Radic. Biol. Med.* 1985. V. 1. № 1. P. 43–49.
 81. Wolbarsht M.L., Fridovich I. Hyperoxia during reperfusion is a factor in reperfusion injury // *Free Radic. Biol. Med.* 1989. V. 6. № 1. P. 61–62.
 82. Yamakawa Y., Takano M., Patel M. et al. Interaction of platelet activating factor, reactive oxygen species generated by xanthine oxidase, and leukocytes in the generation of hepatic injury after shock/resuscitation // *Ann. Surg.* 2000. V. 231. № 3. P. 387–398.
 83. Zinchuk V.V., Borisyuk M.V. Fe^{2+} -Initiated chemiluminescence in rats with high hemoglobin-oxygen affinity during fever // *J. Physiol. and Pharmacol.* 1997. V. 48. № 1. P. 113–119.
 84. Zinchuk V., Borisyuk M. The effect of NO synthase inhibition on blood oxygen-carrying function during hyperthermia in rats // *Respiration Physiology.* 1998. V. 113. № 1. P. 39–45.
 85. Zinchuk V.V. Effect of NO-synthase inhibition on hemoglobin-oxygen affinity and lipid peroxidation in rabbits during fever // *Respiration.* 1999. V. 66. № 5. P. 448–454.
 86. Zinchuk V.V., Dorokhina L.V. Blood oxygen transport in rats under hypothermia combined with modification of the L-arginine-NO pathway // *Nitric Oxide.* 2002. V. 6. № 1. P. 29–34.
 87. Zinchuk V.V., Khodosovsky M.N., Maslakov D.A. Influence of different oxygen modes on the blood oxygen transport and prooxidant-antioxidant status during hepatic ischemia/reperfusion // *Physiol. Res.* 2003. V. 52. № 5. P. 533–544.
 88. Zinchuk V.V., Pronko T.P., Lis M.A. Blood oxygen transport and endothelial dysfunction in patients with arterial hypertension // *Clin. Physiol. & Nuclear Medicine.* 2004. V. 24. P. 205–211.

Поступила в редакцию
01.04.2005 г.

Involvement of Oxygen-Depending Processes in the Pathogenesis of Hepatic Reperfusion Injury

V. V. Zinchuk, M. N. Khodosowsky

Grodno Medical University, Belarus

The disbalance between reactive oxygen species generation and antioxidant defensive factors importantly contributes in the development of hepatic reperfusion damage. Changes in blood oxygen transport during hepatic ischemia/reperfusion are involved in its development. Ischemia-induced oxyhemoglobin dissociation curve shift rightwards also exists during the hepatic reperfusion and thereby may facilitate the free radical attacks against the liver. The least disorders in blood oxygen transport, prooxidant-antioxidant balance and hepatic morpho-functional state were observed during the postischemic period under the conditions of moderate hypoxia. The protective effect of L-arginine during the hepatic ischemia-reperfusion may be partially due to the changed hemoglobin function and thereby tissue oxygen delivery and to the keeping of body prooxidant-antioxidant balance. The development of new pharmacological tools to modify the blood oxygen transport and generate the optimal nitric oxide amounts may be a promising strategy for correction of reperfusion injury.